

2. METHODEN

2.1. Versuchspersonen

Mit dem Ziel, Höhen- und Trainingseffekte auf die Erythropoese bei Frauen zu untersuchen, wurden in diese Studie mehrere Gruppen von Probandinnen aufgenommen. Diese wurden nach bestimmten Kriterien zugeordnet: Trainingszustand, Höhe des Wohnortes und Alter. Die Methoden der Studie wurden von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der Universitätsmedizin Charité Berlin genehmigt.

Trainingszustand

Bezüglich der körperlichen Aktivität wurden die Teilnehmerinnen 3 unterschiedlichen Trainingszuständen zugeordnet:

1. Untrainiert (**UT**): Frauen, die keinen regelmäßigen Sport treiben.
2. Semitrainiert (**ST**): Frauen, die einen Sport wie Fußball, Hockey oder Laufen ca. 3 Mal pro Woche treiben. Eine kleine Gruppe von Bergsteigerinnen mit diesem Trainingszustand wurde aufgenommen. Einige Frauen dieser Gruppe hielten sich zum Teil wöchentlich, andere in längeren Abständen in größerer Höhe als Bogotá (2 800 m – 3 200 m).
3. Ausdauertrainiert (**AT**): Frauen, die sich mit einer fast täglichen (5-6 Mal pro Woche) Sportaktivität in Ausdauerdisziplinen der Leichtathletik oder des Radsports betätigen.

Höhe des Wohnortes

Die Probandinnen kamen aus 3 Wohnorten in unterschiedlichen Höhen:

1. Berlin (Deutschland) 35m über N.N.
2. Cali (Kolumbien) 960m über N.N.
3. Bogotá (Kolumbien) 2600m über N.N.

Alter

In der Studie waren Frauen aus 2 verschiedenen Altersklassen beteiligt:

1. Junge (**J**): Frauen, deren Alter 38 Jahre nicht überschritt.
2. Postmenopausale (**PM**): Frauen, bei denen der Beginn der Menopause zum Zeitpunkt der Untersuchung zwischen 4-25 Jahren zurücklag. Sportlerinnen dieser Gruppe waren Spezialisten für Lang- und Kurzstreckenläufe sowie für Wurfdisziplinen. Messungen an dieser Frauengruppe waren auf Bogotá beschränkt, da die Versuchspersonen aus Cali nicht erschienen.

Alle Frauen aus Berlin (73) waren deutscher Abstammung. Von den insgesamt 57 Teilnehmerinnen aus Bogotá wurden 43 dort oder in Ortschaften vergleichbarer Höhe geboren. Elf kamen nach Bogotá vor 2–23 Jahren und drei vor 6–10 Monaten. Die Überprüfung ihrer Werte für die relevantesten Messgrößen ergab keinen statistischen Unterschied zu den anderen Frauen, daher wurden sie nicht von der Studie ausgeschlossen. Das genetische Erbgut indianischer Vorfahren beträgt in Bogotá etwa 28%, der Rest ist überwiegend weiß. Die Stichprobe aus Cali bestand aus 19 Teilnehmerinnen mit für die Region typischer Abstammung (Mestizen und Mulattinnen). Sowohl jungen als auch postmenopausalen Frauen hatten Erfahrung in ihren Sportbereichen von 8 Monaten bis 15 Jahren, nahmen regelmäßig an regionalen und nationalen Wettkämpfen teil und wurden aus den Stadt- oder Universitäts-sportvereinen rekrutiert. Untrainierte Frauen waren meistens Universitätsstudentinnen bzw. -angestellte. Die Tabelle 2.1 zeigt die Zuordnung der Teilnehmerinnen nach Trainingszustand und Höhe des Wohnortes. Die anthropometrischen Daten finden sich in den Tabellen 3.1., 3.8 und 3.11.

Tabelle 2.1. Zusammensetzung der Teilnehmergruppen nach Sportaktivität, Höhe des Wohnortes und Alter.

Wohnort/ Höhe	Gruppe	n	Sportaktivität
Junge			
Berlin (35 m)	UT	15	Keine
	ST	46	Hockey - Joggen - Aerobics
	AT	12	Radsport - Laufen
Cali (960 m)	UT	14	Keine
	AT	5	Radsport - Gehen
Bogotá (2600 m)	UT	19	Keine
	ST	22	Fußball - Basketball
	AT	16	Radsport - Laufen
	BS	6	Bergwandern
Postmenopausal			
Bogotá	UTPM	12	Keine
	TPM	9	Laufen - Werfen

UT: untrainierte, **ST:** semitrainierte, **AT:** ausdauertrainierte, **BS:** Bergsteigerinnen, **UTPM:** untrainierte postmenopausal, **TPM:** trainierte postmenopausal.

Die folgenden gynäkologischen Daten wurden bei einem großen Teil der Frauen erhoben: Alter bei Auftreten der Menarche, Datum der letzten Menstruation, Dauer des Zyklus sowie Einnahme von Verhütungsmitteln. Die Daten sind nicht immer vollständig, da Probandinnen aus anderen Studien einbezogen wurden, oder die Fragen nicht gestellt wurden.

Tabelle 2.2. Gynäkologische Information von Frauen aus Bogotá, Cali und Berlin.

	nicht verhütende						verhütende		
	Zyklusphase								
	Follikulär			Luteal					
	UT	ST	AT	UT	ST	AT	UT	ST	AT
Berlin	4	11	1	3	7	2	5	12	5
Cali	6	-	3	3	-	2	-	-	-
Bogotá	9	6	3	6	7	8	2	1	-

UT: untrainierte, ST: semitrainierte, AT: ausdauertrainierte.

Die Zyklusphase wurde mit Hilfe des Datums der letzten Menstruation und deren Dauer ermittelt. Frauen, die sich zur Zeit der Messung der Hb-Masse in der ersten bzw. zweiten Hälfte ihres Zyklus befanden, wurden der Lutealphase bzw. Follikelphase zugeordnet. Die gynäkologische Information ist in der Tabelle 2.2 zusammengefasst.

2.2. Ablauf der Studie

Die Probandinnen erschienen im Labor vormittags, wurden über sämtliche Untersuchungen informiert und unterzeichneten ihre freiwillige Teilnahme an der Studie. Vor Studienanfang wurden die Teilnehmerinnen von einem Arzt untersucht. Frauen mit Atmungs-, Blut-, Herz-Kreislauf- und Nierenerkrankungen wurden von der Studie ausgeschlossen. Zur Bestimmung verschiedener Blutwerte wurden nach 10 Minuten Sitzen 5 ml Blut aus der Armvene abgenommen. Die Probandinnen wurden danach gewogen und gemessen, dann führten sie eine Ergometrie durch. Entweder an einem anderen Tag oder frühestens 45 Minuten nach der Ergometrie wurde die Hb-Masse bestimmt und anschließend die Dicke von 4 Hautfalten (siehe Kapitel 2.2.4.) zur Bestimmung des Körperfettanteils gemessen.

2.2.1. Bestimmung der maximalen Sauerstoffaufnahme ($VO_2\max$)

Diese Messungen sind wegen der verschiedenen Höhen nicht völlig gleichartig durchgeführt worden. Die Protokollvariationen (Dauer und Intensität der Stufe) sind für die Bestimmung nicht von wesentlicher Bedeutung (Pierce et al. 1999, Bogaard et al. 1996). Die maximale Sauerstoffaufnahme ($VO_2\max$) von Teilnehmerinnen aus Berlin wurde auf einem Fahrrad-Ergometer (Excalibur, Excalibur/Sport, Groningen, Niederlande) bestimmt. Außerdem wurden Daten aus einer für andere Zwecke durchgeführten Studie verwendet, bei der eine Laufbandergometrie benutzt wurde (Laufband Woodway, Ergo XELG2, Weil am Rhein, Deutschland). Das Fahrradergometerprotokoll fing mit 30 Watt für untrainierte und mit 60

Watt für trainierte Frauen an und wurde um 30 Watt alle 3 Minuten gesteigert. Das Laufband-Protokoll begann mit einer Geschwindigkeit von $2.0 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ und wurde um $0.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ alle 3 Minuten erhöht. Die Steigung des Laufbandes betrug 1.5%. Die Belastung wurde bis zur subjektiven Erschöpfung durchgeführt. Sauerstoffaufnahme und CO_2 -Abgabe (VO_2 und VCO_2) wurden mittels eines Spirometriesystems (Oxycon Gamma, Mijnhard AE, Bunnik, Niederlande) gemessen. In Bogotá reduzierten wir wegen der Höhe die Belastungstufen bei untrainierten Frauen auf 25 Watt. Alle Frauen wurden auf demselben Fahrradergometer (ER 900 Jäger Würzburg, Deutschland) belastet. Für die Gasanalyse wurde ein Ergospirometer Quinton (QMCTM Metabolic Cart, Quinton Instrument Company, USA) verwendet.

Das Protokoll für Teilnehmerinnen aus Cali umfasste eine Anfangsbelastung von 38 Watt für Untrainierte und 75 Watt für Trainierte mit Steigerungsstufen von 37 Watt alle 3 Minuten für beide Gruppen. Kleinere Stufen ließen sich aus technischen Gründen auf dem verwendeten Ergometer (Monark 818E) nicht einstellen, da der Widerstand durch Gewichtszugabe vergrößert wird und die Kilogrammkala keine Erhöhungen von weniger als 0.25kg ermöglicht. Die Belastung in Watt ergibt sich durch das Produkt von Gewicht und Umdrehungen pro Minute. Deshalb wurden die Probandinnen aufgefordert, konstant bei 75 U/min zu treten. Bei niedrigeren Umdrehungszahlen wird der Test oft vorzeitig wegen zu großer Bremskraft abgebrochen. Die Atemgase wurden mit einem tragbaren Spirometer K4 (K4b2BxB Pulmonary Gas Exchange, Italien) gemessen.

Die Benutzung unterschiedlicher Geräte bei der Bestimmung der Leistungsfähigkeit könnte zu nicht völlig vergleichbaren Ergebnissen führen. Aus logistischen Gründen war es nicht möglich, Vergleichsmessungen für alle verwendeten Geräten in Deutschland und in Kolumbien vorzunehmen. Es wurde eine Messreihe durchgeführt, um das Ergospirometer Quinton mit dem tragbarem Ergospirometer K4 zu vergleichen. Sieben Probanden führten unabhängige Maximaltests durch, bei denen die $\text{VO}_{2\text{max}}$ mit dem Quinton- und dem K4-Ergospirometer gemessen wurde. Verglichen mit dem K4 unterschätzt das Quinton-Gerät die $\text{VO}_{2\text{max}}$ nur um 2.3% (nicht signifikant). Dieses Ergebnis unterstützt die Aussage anderer Autoren über die Genauigkeit des Ergospirometers K4 (Bigard & Guezennec 1995, Lucía et al. 1993). Eine tragbare Variante des Oxycons (MetaMax) wurde von der Arbeitsgruppe Prof. Schmidt in Bogotá mit dem Quinton-Ergometer verglichen und zeigte ebenfalls keinen Unterschied (persönliche Mitteilung, Schmidt 2003).

Die Leistungsfähigkeit nimmt mit zunehmender Höhe ab. Für den Vergleich aller Gruppen wurden die Daten von Tieflandbewohnerinnen auf 2 600 m Höhe korrigiert, dabei wurden die Regressionskurven von Fulco et al. (1998), die auf Daten von 67 Veröffentlichungen beruhen, bestimmt. Es bestehen keine Geschlechtunterschiede in $VO_2\text{max}$ -Abfall in der Höhe, aber doch ein Einfluss des Trainingszustandes. Aus den Regressionskurven wurde ein Abfall von 12% für UT- und 18% für AT-Frauen aus Berlin ermittelt. Für ST-Frauen wurde ein Wert von 15% interpoliert. Da die Leistungsfähigkeit bereits in 1000 m Höhe um 4% abnimmt, wurde 8% und 14% von der $VO_2\text{max}$ der UT- bzw. AT-Frauen aus Cali abgezogen. Eine zusätzliche Korrektur wurde für verschiedene Belastungsweisen von Laufband- und Fahrradtest vorgenommen (Kohrt et al. 1989, Otoole et al. 1987, Schneider & Pollack 1991). Beim Lauftest wurden deswegen 5% vom gemessenen $VO_2\text{max}$ abgezogen.

Die Herzfrequenzmessung erfolgte für alle Teilnehmerinnen an allen Orten durch die Anwendung eines um den Brustkorb gelegenen Pulstesters (Polar XTrainer, Plus, Polar electro OY, Finnland). Bei allen verwendeten Testformen zur Bestimmung der maximalen Sauerstoffaufnahme wiesen die Probandinnen eindeutige Zeichen von Ausbelastung wie Verminderung der Laufgeschwindigkeit bzw. der Trettfrequenz, maximale Herzfrequenz unter Berücksichtigung des Alters ($220 \text{ Schläge}\cdot\text{min}^{-1} - \text{Alter}$, beim Laufbandprotokoll) und respiratorischer Quotient größer als 1 auf. In Berlin unterschieden sich die Mittelwerte für $VO_2\text{max}$ aller UT- und ST-Frauen (Fahrrad- + Laufbandtest) nicht von denen, die nur auf dem Fahrradergometer getesteteten, deshalb wurden alle Werte zusammengefasst.

2.2.2. Bestimmung der Gesamthämoglobinmasse und der Blutvolumina

Die Bestimmung der Gesamthämoglobinmasse (Hb-Masse) erfolgte durch die für arterialisierendes Blut aus dem Ohrläppchen modifizierte CO-Rückatmungs-Methode (Hütler et al 2000). Das Volumen von CO wurde so eingestellt, dass die Differenz zwischen dem Mittelwert des HbCO-Gehalts der 8., 10. und 12. Minute und dem Wert vor CO-Inhalation, also ΔHbCO im Blut, 5-7% betrug. Daraus ergab sich ein Verhältnis von etwa $1 \text{ ml CO}\cdot\text{kg}^{-1}$ Körpergewicht für Frauen aus dem Tiefland. Für Frauen aus den anderen Höhen berücksichtigten wir den Abfall des Luftdrucks in der Höhe und entsprechend wurde das Verhältnis CO-Volumen/Körpergewicht korrigiert. In Cali und Bogotá betrug dieses Verhältnis 1.15 bzw. $1.35 \text{ ml CO}\cdot\text{kg}^{-1}$. Da Trainierten mehr Blutvolumen besitzen, wurde bei ihnen 10 ml CO mehr als bei Untrainierten eingesetzt. Das dem Körpergewicht angepasste CO-Volumen wurde mit einer gasdichten Spritze (Hamilton Company, Reno, USA) in ein Spirometer oder

in einen Douglassack (Harvard Apparatus, Kent, England) eingegeben und mit 4-5 Litern O₂ gemischt. Die Frauen inhalierten die Mischung aus dem geschlossenen System für 15 Minuten. Aus dem Ohrläppchen wurde in Abständen von 2 Minuten mit Glaskapillaren Blut abgenommen und der HbCO-Gehalt mittels eines Hämoximeters (OSM3 Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) gemessen. Die Anreicherung des Hb mit CO im arteriellen Blut für die verschiedenen Gruppen ist in der Abbildung 2.1 zu sehen. In den ersten 3 Minuten steigt HbCO rasch an, erreicht den höchsten Wert in der 5. Minute und nimmt in Mittel nur 0.22% (0 – 0.4%) bis zur 12. Minute ab.

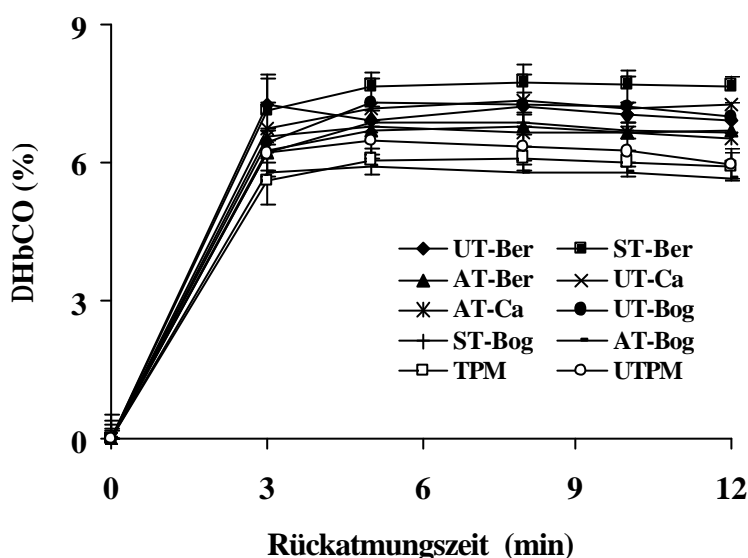


Abb. 2.1. $\Delta\text{HbCO}(\%)$ in arteriellem Blut während der Hb-Massebestimmung bei untrainierten (UT), semitrainierten (ST) und ausdauertrainierten (AT) jungen Frauen aus Bogotá (Bog), Cali (Ca) und Berlin (Ber), sowie bei untrainierten (UTPM) und trainierten (TPM) postmenopausalen Frauen aus Bogotá.

Das HbCO schwankt zwischen 5.5 und 8%, damit wurde der empfohlene minimale HbCO-Wert für zuverlässige Bestimmungen von 6.5% (Burge & Skinner, 1999) für fast alle Gruppen überschritten. AT-Frauen aus Bogotá lagen nur gering (ca. 1.0%) unter der empfohlenen Schwelle. Für die Berechnung der Hb-Masse wird der Mittelwert des ΔHbCO der 8. bis 12. Minute benutzt, da in dieser Zeit die Mischung von CO mit dem Blut vollständig ist und die venösen mit den arteriellen Hb-CO-Werten übereinstimmen (Hütler et al 2000). Die Hb-Masse in Gramm und die Blutvolumina in Milliliter lassen sich nach Böning et al. (2001) berechnen:

$$Hb_{\text{tot}}(g) = \frac{V_{\text{co}} \times 100}{\Delta\text{HbCO} \times 1.39} \quad (1)$$

wobei 1.39 das Volumen (ml) von CO darstellt, das sich mit 1g Hb verbindet (Hüfner'sche Zahl). Das CO-Volumen unter Standardbedingungen [(STPD), 0°C, 760 mmHg, trocken] errechnet sich aus dem ins Spirometer injizierten CO-Volumen unter der in der Spritze

herrschenden Bedingungen (ATPD), nämlich aktueller Luftdruck (P_B), aktuelle Temperatur, trocken:

$$V_{CO_{STPD}} = \left[V_{CO_{ATPD}} \times \frac{P_B}{760(1 + 0.00366 \times t)} \right] \quad (2)$$

P_B = Luftdruck in mmHg

V_{CO} = Volumen in l (ATPD) des ins Spirometer injizierten CO-Volumen

t = Temperatur in °C

0.00366 = Ausdehnungsfaktor eines Gases pro °C Temperatur-Erhöhung

Im Spirometer verbleibt noch ein kleiner Teil des ursprünglich injizierten CO-Volumens, der bei der Berechnung berücksichtigt wurde (2.2%, Burge et al.1995). Das Erythrocytenvolumen ergibt sich aus der gesamten Hb-Masse (Hb_{tot}) der Gleichung 1, sowie aus Hb-Konzentration und Hämatokritwert (Hkt). Letztere wurden wegen größer Genauigkeit im venösen Blut gemessen.

$$EV(ml) = \frac{Hb_{tot} \times Hkt \times 100}{[Hb]} \quad (3)$$

Der Hkt wurde mit dem Faktor 0.98 für gefangenes Plasma korrigiert, wenn die Zentrifugationsmethode angewendet wurde (s. unten). Das Plasmavolumen berechnet man mit Hilfe des Erythrocytenvolumens (Gleichung 3) und des Hkt-Wertes.

$$PV(m) = EV \frac{100 - (Hkt \times 0.91)}{Hkt \times 0.91} \quad (4)$$

wobei 0.91 das Verhältnis zwischen Gesamtkörperhämatokrit und venösem Hämatokrit bedeutet (Gregersen & Rawson, 1959). Durch die Addition von Plasma- und Erythrocytenvolumen berechnet man das Blutvolumen:

$$BV(ml) = PV + EV \quad (5)$$

Die Methode wurde auf Reproduzierbarkeit überprüft, indem Wiederholungsmessungen an 4 Probanden und an verschiedenen Tagen vorgenommen wurden. Der Variationskoeffizient ($[SD/MW]/100$) für wiederholte Messungen (3–5 je Proband) im Abstand von 14–31 Tagen betrug nur 2.4% (0.8–4.2%) und beweist die gute Reproduzierbarkeit der Methode. Hb-Masse, Volumina wurden auf Körpergewicht ($g \cdot kg^{-1}$ bzw. $ml \cdot kg^{-1}$) bezogen.

2.2.3. Bestimmung des Körperfettanteils

Der Fettanteil wurde durch die Hautfaltenmethode bestimmt. Dafür wurde die Dicke der Haut mit einem Caliper (John Bull, British indicators Ltd) an Triceps, Schulterblatt, Bauch und Unterschenkel gemessen. Alle Messungen wurden auf der rechten Körperseite vorgenommen. Der Fettanteil (%) wurde nach Williams et al. (1992) berechnet:

$$\text{Körperfettanteil}(\%) = 0.428(\text{Summe}_4) - 0.0011(\text{Summe}_4)^2 + 0.127(\text{Alter}) - 3.01 \quad (6)$$

Hier stellt Summe_4 die Summe der 4 oben genannten Hautfalten dar. Die verwendete Formel zur Berechnung vom Fettanteil wurde ursprünglich für mittelalte und alte Frauen (34 bis 84 Jahren) standardisiert. Wir haben diese Formel bei 27 Frauen der Berliner Stichprobe mit der Bioimpedance Methode (BIA, Quadscan 4000, Bodystat LTD) verglichen. Der Fettanteil durch die BIA- und durch die Hautfaltenmethode betrug jeweils $20.3 \pm 3.8\%$ und $20.7 \pm 3.8\%$. Die große Ähnlichkeit der Werte und die hohe Übereinstimmung ($r=0.873$, $p<0.001$) zwischen den Methoden erlaubte die Formel auch bei jüngeren Frauen unserer Stichprobe anzuwenden. Fettmasse und fettfreie Masse wurden nach den folgenden Formeln bestimmt.

$$\text{Fettmasse}(kg) = \frac{\text{Fettanteil}(\%) \times (\text{Körpermasse})}{100} \quad (7)$$

$$\text{Fettfreie Masse}(kg) = \text{Körpermasse} - \text{Fettmasse} \quad (8)$$

2.2.4. Ernährungsanalyse

Ernährungsauswertungen wurden bei einem Teil der Bogotanerinnen vorgenommen, die einen Fragebogen mit Angabe von Zusammensetzung, Menge und Häufigkeit der innerhalb von 3 Tagen eingenommenen Mahlzeiten, sowie der körperlichen Aktivität ausfüllten. Dabei wurden die kolumbianischen Essgewohnheiten berücksichtigt (ICBF 1990, 1996, FAO, WHO, and UNO, 1985).

In den in Berlin in EDTA-Röhrchen abgenommene Blutproben wurde die [Hb] und der Hkt mit einem Coulter Counter (MD 8, Coulter electronics, Miami, USA) gemessen. In Kolumbien erfolgte die Messung der [Hb] und der SaO₂ mit einem Spektrophotometer (Oxygen Saturation Meter 3 (OSM3), Radiometer Kopenhagen, Dänemark); Mikrokapillaren wurden zur Messung des Hkt mit Vollblut abgefüllt und zentrifugiert. Da nach der Zentrifugation zwi-

schen den Zellen ein Rest Plasma von ca. 2% bleibt, wurden die Werte mit 0.98 multipliziert. Sie unterschieden sich danach nicht von den Coulter-Messungen. Bestimmungen der [Hb] mit dem OSM3 wurden mit den am Coulter-Gerät verglichen und für eine kleine systematische Abweichung von 2% korrigiert.

Zur Anfertigung von Ausstrichen wurden 100µl Vollblut aus dem in EDTA-Röhrchen abgenommenen Blut verwendet. Reticulocyten wurden in 1000 Zellen in 2 Ausstrichen pro Teilnehmerin gezählt, die aus mit Brillant-Cresyl-Blau angefärbtem Blut angefertigt wurden. Wegen technischer Probleme konnten die Reticulocyten der Cali-Stichprobe nicht gemessen werden. Aus dem restlichen Blut wurden Erythrocytenkonzentrate zur Bestimmung der erythrocytären Aspartat-Aminotransferase (eASAT) wie folgt hergestellt: Plasma und Zellen wurden durch Zentrifugation getrennt, die Zellen wurden dreimal mit 0.9%-iger Kochsalz-Lösung gewaschen und bei 2 500 g für 15 Minuten zentrifugiert, schließlich wurden die Erythrocyten-Konzentrate in Fraktionen von 100µl für spätere Bestimmungen bei -70°C eingefroren.

Serum-Röhrchen wurden für 10 Minuten bei 2 500 g zentrifugiert und die Zellen von Serum getrennt. Serumproben wurden aufgeteilt und bei -70°C für spätere Bestimmungen eingefroren. Die in Kolumbien verarbeiteten Erythrocytenkonzentrate und Serumproben wurden ebenfalls bei -70°C eingefroren und in Trockeneis per Flugzeug nach Deutschland geschickt.

Bei der Bestimmung der eASAT-Aktivität wurde die optimierte Standard-Methode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie mit dem Kit von Sigma Diagnostic (EC 2.6.1.1 UV-Test) und modifizierten Ansatzvolumina für Erythrocyten eingesetzt (Robinson et al. Unpublizierte Daten). Weitere Messgrößen des Eisenstoffwechsels und der Erythropoese wie Ferritinkonzentration (Enzyme-Immunoassay, Abbot), löslicher Transferrin-Rezeptor (sTfR) (ELISA, R&A Systems, Inc, Minneapolis, USA) und die Aktivität von Erythropoetin (EPO) (ELISA, R&A Systems, Inc, Minneapolis, USA) - wurden im Serum bestimmt.

2.3. Datenauswertung

Unterschiede von Haupteffekten (Höhe, Training und Alter) wurden durch die Varianz-Analyse und paarweise Vergleiche zwischen Gruppen durch t-Test nach Bonferroni-Korrektur bzw. Tamhane-Test für Gruppen mit ungleicher Fehlervarianz getestet. Der Effekt von der VO₂max auf die Hb-Masse wurde durch die Kovarianzanalyse geprüft. Regressionsanalyse

wurden zur Überprüfung von dem Zusammenhang zwischen Kenngrößen vorgenommen. Die Überprüfung auf Normalverteilung der Messgrößen erfolgte durch den Kolmogorov-Smirnov-Test (SPSS für Windows, Version 10.07, 2001). Die Nullhypothese wurde mit einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$ abgelehnt.